

GMトウモロコシMIR162検知法開発

－系統特異的定量分析法の開発と試験室間共同試験－

技術の特徴

遺伝子組換え(GM)トウモロコシMIR162系統は、食品原料として広く流通している。しかしながら、MIR162はGM作物開発に際し頻用されているカリフラワーモザイクウィルス35Sプロモーター等の配列を有さないため、従来のスクリーニング法では検知できない。このため、当該系統に対する定量検知法が食品表示の検証のために必要とされている。

研究の内容

MIR162の系統特異的定量検知法を開発し、室間共同試験によって性能指標の評価を行った。検知領域はゲノムDNAとのジャンクション領域とした(図1)。開発した検知法の特異性確認(図2)および直線性の確認(表1)を行った。MIR162系統特異的DNAおよび内在性DNAのコピー数比から重量比によるGMトウモロコシ混入率を算出するために必要となる内標比を決定した(表2)。最後に、国際的にハーモナイズされたガイドラインに従って試験室間共同試験を実施し(表3)、開発した分析法が実際の定量検査に適していることを確認した。

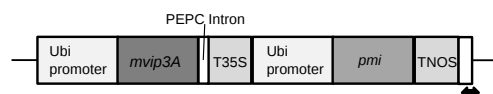


図1. MIR162系統組換えDNAの構造

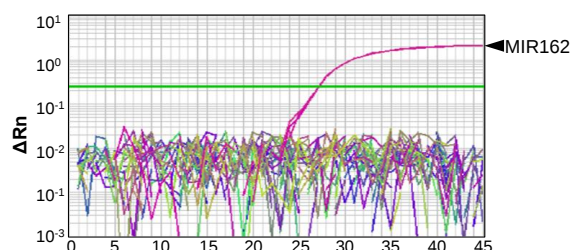


図2. 特異性の確認(MIR162)

表1. 直線性の確認(検量線のR²値)

Participant	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
SSIIB	0.999	0.999	0.998	0.998	0.999	0.999	0.999	0.997	0.998	0.999
MIR162	0.998	0.998	0.999	0.999	0.997	1.000	0.997	0.996	0.998	0.997
SSIIB	1.000	0.999	0.999	0.999	0.998	0.999	0.999	0.999	1.000	0.999
MIR162	0.996	0.999	0.999	1.000	1.000	0.996	0.997	0.998	0.998	0.997

表2. 内標比(Cf値)の算出

7900			7500		
Mean	SD	RSD	Mean	SD	RSD
0.697	0.060	8.67	0.635	0.019	2.97

SD; Standard deviation
RSD; Relative standard deviation

表3. 試験室間共同試験の結果

% (w/w)	Retained labs	Trueness		Precision				LOD (20 copies) Below LOD
		means		Repeatability		Reproducibility		
		GMO Amount, %	True value, %	S _r	RSD _r , %	S _R	RSD _R , %	
0.50	10	0.550	10.0	0.062	11.3 ^a	0.057	11.3 ^a	0/20
1.0	10	1.177	15.0	0.202	17.2 ^a	0.194	17.2 ^a	0/20
5.0	10	6.035	20.7	0.567	9.4	0.584	9.7	0/20
10.0	10	12.051	20.5	1.026	8.5	1.200	10.0	0/20

^aWhen RSD_r > RSD_R, RSD_R was considered as the same value of RSD_r.

今後の展開

公定法として利用可能となるよう関係部署への働きかけを行う。

参 考

- 1) Takabatake *et al.* (2014) Food Hyg. Saf.Sci., **55**(5), 205-209
- 2) Horwitz. (1995) Pure Appl. Chem., **67**, 331-343
- 3) Appendix D: Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a Method of Analysis. In Official Methods of Analysis of AOAC Int. 17th ed. vol. II, Gaithersburg, MD, USA